

RTS Arctic (DE3) 表达感受态细胞说明书

本产品仅供体外研究使用，不得用于临床诊断

描述：

BL21 (DE3) Chaprone 感受态细胞中含有分子伴侣蛋白质粒，其表达产物可协助重组蛋白正确折叠形成可溶活性蛋白。分子伴侣蛋白质粒为氯霉素抗性 (chloramphenicol, Cmr) 的表达受控于四环素 (tetR) 操纵子，因此该感受态不适用于氯霉素抗性表达质粒的转化。

本品使用独有的化学感受态专利技术制备，其室温可保存 3 天、 -20°C 可保存 2 年（推荐保存温度）、 -80°C 可长期保存性能无下降。运输过程中无需干冰，可常规冰袋运输（推荐运输温度）。该感受态细胞为热激感受态细胞，转用于蛋白表达（不可用于克隆和载体构建），经 42°C 热激 1min 可获得 $105\sim 106\text{cfu}/\mu\text{g}$ 效价，可满足质粒转化要求。该制品使用简单、运输、储存方便。

组分

RTS BL21(DE3)Chaprone Competent Cell (10T)	1 瓶
Nano E.coli Transfection Reagent	1 mL

储存 RTS 系列感受态为干粉形式，均可室温保存 3 天，长期保存 -20°C (2 年)。经 Nano E. coli Transfection Reagent 溶解后的感受态必须分装后，并于 -60°C 以下保存。溶解后的感受态细胞避免反复冻融，在 -60°C 以下可保存 6 个月。

操作方法

1. 从 -20°C 冰箱中取出 Nano E. coli Transfection Reagent 彻底融化，放置于冰上。取 $300\ \mu\text{l}$ Nano E. coli Transfection Reagent 加入到一支冻干感受态细胞中，并分装到 10 支 1.5ml EP 管中（每支 $30\ \mu\text{l}$ ），于 -60°C 以下保存（或立即使用）。
2. 将 $10\sim 100\ \text{ng}$ 质粒 DNA（不可使用连接产物、不可使用氯霉素筛选标记质粒）加入到分装的感受态细胞中，轻弹 EP 管（或枪头轻轻敲打），置于冰上 15min。
3. 置于 42°C 热激 1 min 后，迅速置于冰上急冷 2 min。
4. 热激完毕后，向上述感受态细胞中加入 $450\ \mu\text{L}$ 不含抗生素的 SOC（或 LB）培养基， 37°C 振荡（225 rpm）培养 60 min。使质粒上抗性标记基因表达，菌体复苏。
5. 取 $200\ \mu\text{l}$ 复苏菌液涂布到含相应抗生素的 LB 琼脂平板表面。（含相应质粒抗生素和 $20\ \mu\text{g}/\text{ml}$ 氯霉素）
6. 将平板置于 37°C 培养，12~18 小时后可出现菌落。
7. 挑选生长良好的菌落，接入 LB 培养基（含相应质粒抗生素， $20\ \mu\text{g}/\text{ml}$ 氯霉素）， 37°C 剧烈振荡培养过夜。
8. 1/50 比例接入新的 LB 培养基（含相应质粒抗生素， $20\ \mu\text{g}/\text{ml}$ 氯霉素， $0.5\ \text{mg}/\text{ml}$ L-阿拉伯糖） 37°C 剧烈振荡培养至菌体密度 OD600 约 0.3（约 2h）。

9. 加入终浓度 2 ng/ml 四环素（诱导 chaprone 伴侣蛋白表达），37℃ 剧烈振荡培养至 OD600 约 0.5（约 2~4h）。
10. 加入适量 IPTG (0.1-1 mM)，15℃ 振荡培养 24h（培养摇床无法制冷条件下，室温诱导 8~12h）。
11. 4,000 rpm 室温离心 15 min，收集细胞，进行蛋白表达和可溶性表达分析。